

ĐÁNH GIÁ HIỆN TRẠNG MÔI TRƯỜNG ĐẤT VÀ ĐẶC ĐIỂM NHÓM VI KHUẨN BẢN ĐỊA CÓ KHẢ NĂNG PHÂN HỦY DẦU TRONG ĐẤT NHIỄM DẦU VEN BIỂN VỊNH CAM RANH, KHÁNH HÒA

Đỗ Thị Tuyền^{1,4}, Nguyễn Kim Thùy¹, Trần Thị Thanh Thúy¹, Nguyễn Thị Kim Thanh¹, Đinh Thị Thu Trang¹, Trịnh Ngọc Hoàng², Nguyễn Thị Thanh Lợi^{3,4}, Phí Quyết Tiến^{3,4}, Ngô Cao Cường^{1*}

¹Trung tâm Nhiệt đới Việt-Nga

²Trường Đại học Khoa học - Đại học Thái Nguyên

³Viện Công nghệ Sinh học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

⁴Học viện Khoa học và Công nghệ - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

TÓM TẮT

Hiện trạng ô nhiễm dầu ở các khu vực ven biển đã đặt ra yêu cầu cấp thiết về nghiên cứu và xử lý ô nhiễm môi trường nơi đây. Nghiên cứu đã phân tích các mẫu đất ven biển vịnh Cam Ranh, Khánh Hòa nhằm đánh giá hiện trạng môi trường đất và đặc điểm nhóm vi khuẩn bản địa có khả năng phân hủy dầu ở điều kiện nhiễm mặn. Kết quả từ 5 mẫu đất đại diện 5 khu vực tương ứng CR2, CR3, CR4, CR5 và CR7 cho thấy, đặc điểm chung của đất khu vực khảo sát có thành phần cơ giới nhẹ, hàm lượng cát hạt cát cao (89,360%), trong khi hàm lượng sét thấp (4,90%). Đất có phản ứng ít chua và từ không mặn đến mặn nhẹ. Các mẫu đất có hàm lượng chất hữu cơ, đạm, lân và kali ở mức nghèo đến trung bình; hợp chất thơm đa vòng và chlorobenzene trong ngưỡng cho phép. Tuy nhiên, chỉ số tổng hydrocarbon dầu (TPH) dao động lớn từ 32,08 đến 3854,07 mg/kg, với 4 khu vực được xác định ô nhiễm dầu, đặc biệt mẫu CR5 có mức độ nhiễm cao gấp gần 8 lần giới hạn cho phép (QCVN 03:2023/BTNMT). Từ các mẫu đất thu tại 3 khu vực tương ứng CR3, CR4 và CR7 được đánh giá là có ô nhiễm dầu trong đất với hàm lượng TPH trong khoảng (500 – 600 mg/kg) đã nuôi cấy, làm giàu, phân lập, và định danh được 22 chủng vi khuẩn thuộc về 5 chi vi khuẩn *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Acinetobacter*, và *Niveispirillum*. Kết quả này cho thấy sự đa dạng vi khuẩn trong các mẫu đất nhiễm dầu tại vùng ven biển Cam Ranh, Khánh Hòa, mở ra tiềm năng sử dụng các chủng vi khuẩn này cho công tác xử lý ô nhiễm dầu trong tương lai.

Từ khóa: Phân hủy dầu, phân tích đất, vi khuẩn bản địa, vi khuẩn phân hủy dầu, vịnh Cam Ranh.

MỞ ĐẦU

Trong bối cảnh biến đổi khí hậu và sự gia tăng tần suất các sự cố tràn dầu, việc đánh giá hiện trạng môi trường đất và tìm kiếm các biện pháp khắc phục hiệu quả trở thành yêu cầu cấp bách đối với các khu vực ven biển. Vịnh Cam Ranh, Khánh Hòa là một trong những khu vực ven biển quan trọng của Việt Nam cũng đang đối diện với những thách thức liên quan đến ô nhiễm dầu mỏ (Nguyễn Thị Kim Thanh, 2023).

Dầu mỏ và các sản phẩm từ nhiên liệu hóa thạch là nguồn năng lượng quan trọng đối với nền kinh tế toàn cầu, nhưng việc sử dụng và vận chuyển chúng mang đến nguy cơ lớn cho môi trường. Sự cố tràn dầu gây ô nhiễm đất, làm thay đổi cấu trúc và chức năng của hệ sinh thái đất, ảnh hưởng đến sức khỏe con người và động thực vật (Corwin *et al.*, 2020; Gupta *et al.*, 2019). Các chỉ tiêu quan trắc độ phì đất bao gồm: dung trọng, pH_{KCl}, thành phần cơ giới (cát; limon; sét), tổng số muối tan (TSMT) độ dẫn điện (EC), dung tích hấp thu (CEC), chất hữu cơ tổng số OM (%), N (%), P₂O₅ (%), K₂O (%) đã được xác định có sự thay đổi ở các khu vực sinh thái đặc thù khác nhau và có xu hướng tiệm cận về giá trị dinh dưỡng nghèo đến trung bình trong đất cát ven biển (Ngô Trung Dũng, 2023; Nguyễn Ngọc Bảo Châu, 2021; TCVN 9236-2:2012). Trong khi đó, khả năng phục hồi của hệ sinh thái đất bị ô nhiễm dầu phụ thuộc lớn vào đặc điểm của nhóm vi khuẩn bản địa có khả năng phân hủy dầu đã được công bố (Van Hamme *et al.*, 2003).

Nghiên cứu về đặc điểm và khả năng của các vi khuẩn bản địa trong việc phân hủy dầu là một hướng đi tiềm năng trong việc giảm thiểu tác động của ô nhiễm dầu (Van Hamme *et al.*, 2003). Các vi khuẩn này có khả năng chuyển hóa các hợp chất hydrocarbon phức tạp thành các hợp chất đơn giản, ít độc hại hơn. Tuy nhiên, hiểu biết về nhóm vi khuẩn này tại khu vực ven biển vịnh Cam Ranh, Khánh Hòa vẫn còn khá hạn chế.

Một nghiên cứu được thực hiện giai đoạn 6/2022 – 6/2024 đã xác định có ô nhiễm dầu trong đất theo khu vực và theo độ sâu tầng đất tại một số khu vực thuộc ven biển vịnh Cam Ranh, Khánh Hòa (Nguyễn Thị Kim Thanh, 2023). Qua nghiên cứu khảo sát, thu thập thông tin và kết quả phân tích thành phần tổng hydrocarbon dầu (TPH) trong 84 mẫu đất thu tại 21 điểm theo 4 tầng độ sâu của phẫu diện đất (0 - 30 cm, 30 - 60 cm, 60 - 90 cm, 90 - 120 cm)

tại đây đã xác định được 5 khu vực có mức độ ô nhiễm dầu khác nhau (Dữ liệu chưa được công bố). Mục tiêu của nghiên cứu này là đánh giá hiện trạng môi trường đất ven biển vịnh Cam Ranh bị nhiễm dầu và xác định đặc điểm của nhóm vi khuẩn bản địa có khả năng phân hủy dầu. Kết quả nghiên cứu không chỉ cung cấp cái nhìn tổng quan về mức độ ô nhiễm môi trường đất mà còn mở ra khả năng ứng dụng các vi khuẩn bản địa trong công tác khắc phục và xử lý ô nhiễm dầu. Qua đó, góp phần bảo vệ và phát triển bền vững môi trường ven biển, đồng thời nâng cao năng lực quản lý và ứng phó với các sự cố môi trường.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu nghiên cứu

Dựa trên các thông tin khảo sát và các nghiên cứu thăm dò của nhóm nghiên cứu, tổng số 15 mẫu đất được thu nhận tại 5 khu vực có kí hiệu CR2, CR3, CR4, CR5 và CR7 thuộc ven biển Vịnh Cam Ranh, Khánh Hòa (nằm trên địa phận thành phố Cam Ranh và huyện Cam Lâm). Khu vực nghiên cứu có độ cao trung bình là 4,64 m so với mực nước biển và khoảng cách tới mép bờ biển trung bình 306 m. Nghiên cứu được thực hiện trong thời gian từ 9/2023 – 6/2024.

Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp khảo sát, lấy mẫu ngoài thực địa

Dựa trên kết quả nghiên cứu thăm dò về mức độ ô nhiễm dầu trong đất của nhóm nghiên cứu trước đó (Đỗ Thị Tuyến, 2023; Nguyễn Thị Kim Thanh, 2023), tiến hành xây dựng hệ thống 15 điểm lấy mẫu đất tại 5 khu vực thuộc cùng hệ sinh thái ven biển bán đảo Cam Ranh (3 điểm/khu vực). Tại mỗi điểm, tiến hành đào 1 phẫu diện đất tới độ sâu 120 cm và lấy mẫu đất theo phương pháp lấy mẫu hỗn hợp, 1 mẫu hỗn hợp gồm 4 mẫu đơn được thu ở các độ sâu 0 - 30 cm, 30 - 60 cm, 60 - 90 cm, 90 - 120 cm. Các mẫu hỗn hợp trên được sử dụng để phân lập và định danh các chủng vi khuẩn phân hủy dầu. Đối với phân tích tính chất vật lý, hoá học và chỉ tiêu chất ô nhiễm trong đất sử dụng các mẫu đại diện theo khu vực. Theo đó, cứ mỗi 3 mẫu hỗn hợp thuộc 1 khu vực được trộn đều với nhau để thu được 1 mẫu đại diện cho khu vực đại diện và có kí hiệu mẫu tương ứng CR2, CR3, CR4, CR5 và CR7. Các mẫu đất sau khi thu thập được ghi chú, bảo quản trong túi nilon và vận chuyển về phòng thí nghiệm để phân tích các chỉ tiêu chất lượng môi trường (Theo hướng dẫn của thông tư số: 60/2015/TT-BTNMT).

Phương pháp phân tích mẫu đất

Các mẫu đất được phân tích áp dụng theo các tiêu chuẩn Việt Nam và các tiêu chuẩn ngành chi tiết theo Bảng 1. Các mẫu đất được phân tích tại Phòng thí nghiệm Phân viện Công nghệ sinh học, Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga, đồng thời được gửi phân tích đánh giá ở đơn vị đánh giá độc lập.

Bảng 1. Chi tiêu và phương pháp phân tích đánh giá mẫu môi trường đất

TT	Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp phân tích	TT	Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp phân tích
I	Nhóm chỉ tiêu tính chất vật lý của đất		III	Nhóm chỉ tiêu chất ô nhiễm trong đất	
1	Thành phần cơ giới	TCVN 8567:2010	1	Hàm lượng chất thơm đa vòng EPA 8270C; EPA 8100 PAHs, clobenzen...	
2	Độ ẩm	TCVN 6648:2000	2	Tổng hydrocacbon dầu	US EPA method 4030
3	Độ xốp	TCVN 11399:2016			
II	Nhóm chỉ tiêu tính chất hoá học của đất				
1	pH (pH _{KCl})	TCVN 5979:2007	6	Nitơ tổng số	TCN 6498-1999
2	Tổng số muối tan	TCVN 12615:2019	7	Phospho tổng số	TCVN 8940:2011
3	Độ dẫn điện	TCVN 6650:2000	8	Lưu huỳnh tổng số	TCVN 7371 : 2004
4	Dung tích hấp thu đất	TCVN 8568:2010	9	Kali tổng số	TCVN 8660:2011
5	Chất hữu cơ tổng số	TCVN 6644:2000			

Đánh giá mức độ ô nhiễm dầu trong đất áp dụng theo quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về chất lượng đất QCVN 03:2023/BTNMT quy định giới hạn tối đa hàm lượng của một số thông số trong đất phù hợp với mục đích sử dụng. Căn cứ mục đích sử dụng, khu vực nghiên cứu được xếp vào nhóm loại 1, giá trị giới hạn tối đa hàm lượng của tổng hydrocarbon dầu (TPH) là 500 mg/kg.

Phương pháp phân lập các chủng vi khuẩn phân hủy dầu

Nuôi cấy, làm giàu, phân lập và tuyển chọn các chủng vi khuẩn phân hủy dầu trên môi trường muối khoáng GOST 9023-74 có bổ sung 5% hỗn hợp dầu thô pha trong DO (tỷ lệ 5:95, v/v), 15‰ NaCl theo phương pháp đã được mô tả (Đỗ Thị Tuyến, 2023; Nguyễn Thị Kim Thanh, 2023). Sau khi cấy truyền làm giàu 3 lần, dịch nuôi cấy ở lần làm giàu thứ 3 được phân lập trên môi trường đĩa thạch MPA ở 30°C trong 24 giờ.

Phương pháp định danh các chủng vi khuẩn phân hủy dầu

DNA tổng số của vi khuẩn được tách chiết bằng cách sử dụng bộ kit ZR Fungal/Bacterial DNA MiniPrep™ Kit (Zymo Research, UK) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Trình tự gen 16S rRNA được khuếch đại bằng phản ứng PCR sử dụng cặp mồi 27F và 1492R. Trình tự các đoạn gene 16S rRNA được tinh sạch và gửi đến công ty First BASE Laboratories Sdn. Bhd. (Malaysia) để giải trình tự. Phần mềm BioEdit 7.2 được sử dụng để kiểm tra trình tự gen hai chiều, kết quả căn chỉnh được so sánh với các gen tham chiếu trên ngân hàng cơ sở dữ liệu GenBank.

Phương pháp xử lý số liệu

Kết quả nghiên cứu được xử lý theo phương pháp thống kê sinh học trên phần mềm Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA).

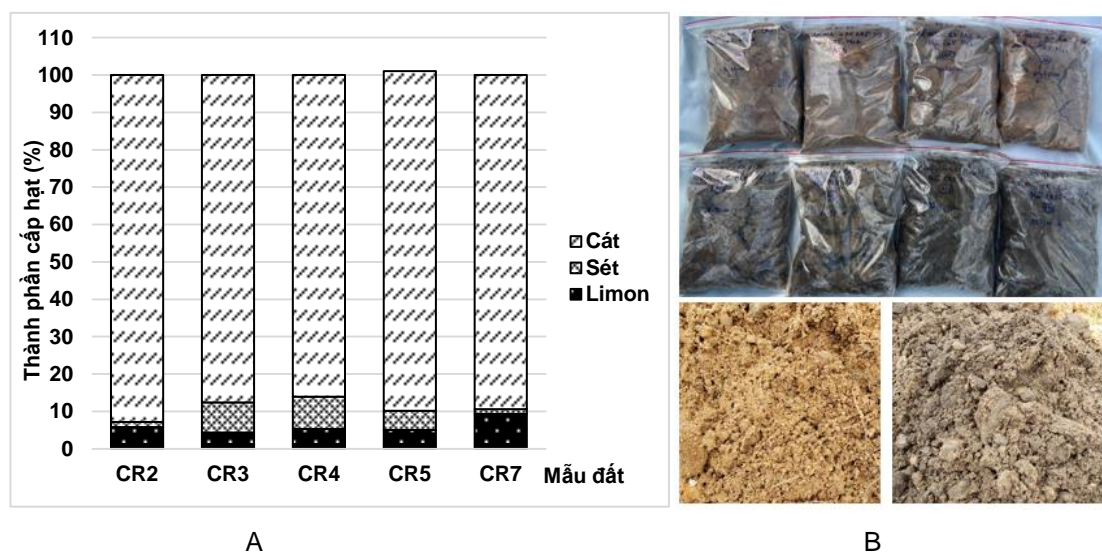
KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Tính chất vật lý cơ bản của đất tại khu vực ven biển Vịnh Cam Ranh, Khánh Hòa

Kết quả phân tích ở Bảng 2 và Hình 1 cho thấy tỷ lệ cấp hạt chiếm 90,264% (dao động 86,1- 93,18%), cấp hạt limon 5,857% (dao động 4,3- 9,3%) và cấp hạt sét 4,177% (dao động 1,3- 8,6%). Trong khi đó, độ xốp của các mẫu đất dao động từ 35,94% (CR7) đến 51,57% (CR5), với giá trị trung bình là 43,046% ± 6,538%. Căn cứ bảng phân loại đất theo thành phần cơ giới của FAO-UNESCO dạng tam giác đều cho thấy đất tại khu vực Vịnh Cam Ranh có thành phần cơ giới nhẹ, chủ yếu là đất cát pha và đất cát. Đất có độ xốp cao cho thấy đất có khả năng thấm nước và lưu thông khí tốt do các hạt cát lớn hơn và không sắp xếp chặt chẽ như hạt sét (TCVN 6857 : 2001).

Bảng 2. Một số tính chất vật lý của 5 mẫu đất thu tại Cam Ranh, Khánh Hòa

TT	Ký hiệu mẫu đất	Thành phần cơ giới (%)			Độ xốp (%)	Loại đất
		Cát	Limon	Sét		
1.	CR2	92,86	5,8	1,34	42,3	Đất cát
2.	CR3	87,6	4,3	8,1	47,56	Đất cát pha
3.	CR4	86,1	5,3	8,6	37,86	Đất cát pha
4.	CR5	90,84	5,0	5,16	51,57	Đất cát pha
5.	CR7	89,4	9,3	1,3	35,94	Đất cát pha
6.	Trung bình (TB ± SD)	89,360 ± 2,654	5,940 ± 1,955	4,90 ± 3,522	43,046 ± 6,538	



Hình 1. Đồ thị biểu diễn tỉ lệ thành phần cấp hạt của 5 mẫu đất (A) và hình ảnh các mẫu đất thu tại Cam Ranh, Khánh Hòa (B)

Tính chất hoá học của một số mẫu đất tại khu vực Vịnh Cam Ranh, Khánh Hòa

Độ chua, tổng muối tan, độ dẫn điện và dung tích hấp thu của đất

Kết quả phân tích các chỉ tiêu hoá học pH_{KCl}, TSMT, EC, CEC được trình bày trong Bảng 3. Từ các chỉ số EC và TSMT có thể đánh giá độ mặn của đất trong khu vực vịnh Cam Ranh, Khánh Hòa (Corwin *et al.*, 2020; Gupta *et al.*, 2019).

Bảng 3. Độ pH, tổng muối tan, độ dẫn điện và dung tích hấp thu của 5 mẫu đất thu tại Cam Ranh, Khánh Hòa

TT	Ký hiệu mẫu đất	pH _{KCl}	TSMT (%)	(EC, $\mu\text{s/cm}$)	CEC (meq/100g)
1.	CR2	6,17	0,129	384	2,12
2.	CR3	7,36	0,268	433	4,28
3.	CR4	7,84	0,272	532	2
4.	CR5	7,09	0,297	497	1,81
5.	CR7	6,17	0,237	227	1,52
6.	Trung bình (TB \pm SD)	6,926 \pm 0,741	0,241 \pm 0,066	414,6 \pm 119,42	2,346 \pm 1,105

Độ pH (pH_{KCl}): Đất cát ven biển tại khu vực nghiên cứu có pH từ 6,17 đến 7,87, trung bình là 6,926 \pm 0,741, phần lớn ít chua. Mẫu CR2 và CR7 có pH axit (6,17), trong khi các mẫu CR3, CR4 và CR5 có pH từ trung tính đến kiềm nhẹ (7,09 - 7,84).

Hàm lượng Tổng muối tan (TSMT): Dao động từ 0,129% đến 0,297%, trung bình là 0,241% \pm 0,066%, cho thấy đất không mặn hoặc mặn nhẹ. Mẫu CR2 có TSMT thấp nhất (0,129%) và CR5 cao nhất (0,297%). Mẫu CR2 và CR7 thuộc loại đất mặn nhẹ (<0,2%), còn CR3, CR4 và CR5 thuộc loại đất có độ mặn trung bình (0,2% - 0,4%) (Corwin *et al.*, 2020; Gupta *et al.*, 2019).

Độ dẫn điện (EC): Dao động từ 227 $\mu\text{s/cm}$ đến 532 $\mu\text{s/cm}$, trung bình là 414,6 \pm 119,42 $\mu\text{s/cm}$, nằm trong ngưỡng không mặn hoặc mặn nhẹ. Theo các ngưỡng thông thường trong nông nghiệp, đất có độ dẫn điện dưới 2000 $\mu\text{s/cm}$ được coi là không mặn hoặc mặn nhẹ (Corwin *et al.*, 2020; Gupta *et al.*, 2019).

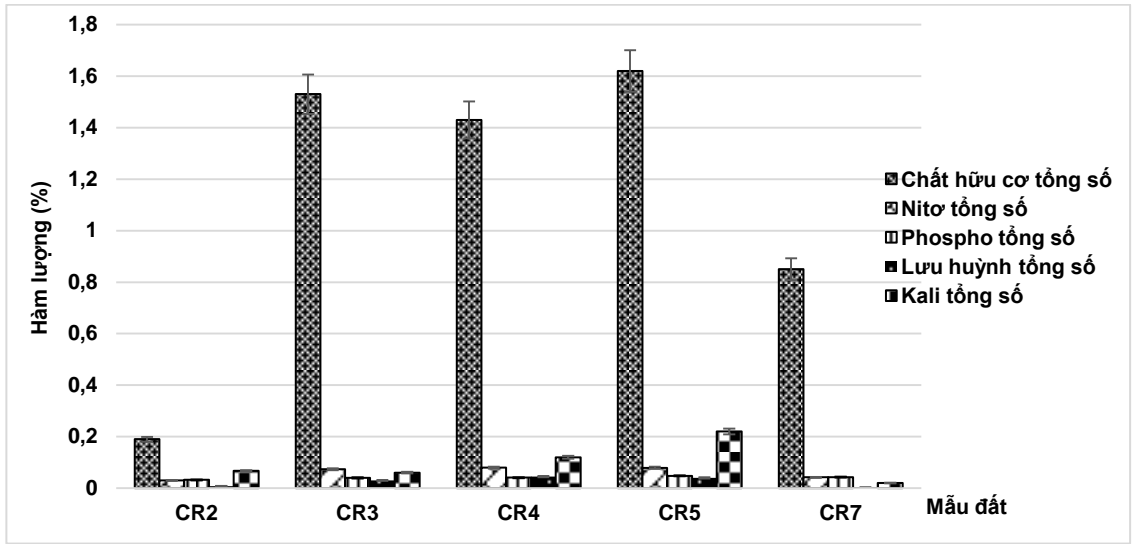
Dung tích hấp thu (CEC): Dao động từ 1,52 meq/100g đến 4,28 meq/100g, trung bình 2,346 \pm 1,105 meq/100g. Độ lệch chuẩn khá cao so với giá trị trung bình cho thấy có sự biến thiên lớn về CEC giữa các mẫu đất. Điều này có thể phản ánh sự khác biệt về thành phần khoáng chất, cấu trúc hạt đất và hàm lượng chất hữu cơ giữa các mẫu. Mẫu đất CR3 có dung tích hấp thu cao nhất (4,28 meq/100g), cho thấy khả năng phân phối và giữ lại dưỡng chất tốt hơn, tạo điều kiện thuận lợi cho cây trồng và cải thiện chất lượng đất (TCVN 9236-2:2012).

Nhìn chung, khu vực đất ở Cam Ranh, Khánh Hòa có sự đa dạng về tính chất hóa học. Đất tại đây có pH từ axit nhẹ đến kiềm nhẹ, hàm lượng tổng muối tan ở mức thấp, độ dẫn điện và dung tích hấp thu cũng có sự biến động đáng kể giữa các mẫu đất. Đất tại khu vực ven biển chịu ảnh hưởng của xâm nhập mặn nên độ mặn cao hơn các khu vực khác trong đất liền. Đất khu vực khảo sát có TSMT dao động từ 0,129 - 0,297%, thuộc loại đất không mặn đến mặn nhẹ. Trong đó, mẫu CR5 thu thập ở khu vực đất sát bờ biển, độ cao so với mực nước biển cũng thấp nhất nên chịu ảnh hưởng mạnh của nước biển và có TSMT cao hơn. Theo nghiên cứu của Ngô Trung Dũng (2023) cũng chỉ ra, các vùng cửa sông, ven biển có độ nhạy cảm cao do ảnh hưởng trực tiếp từ môi trường nước, vì vậy đất tại các khu vực này dễ bị biến đổi lớn về tính chất vật lý và hoá học (Ngô Trung Dũng, 2023).

Hàm lượng các chất tổng số

Kết quả phân tích các chất tổng số và tỷ lệ C/N trong đất được trình bày ở Bảng 3.2. Nhìn chung, tầng đất ở độ sâu từ 0 – 120 cm ở khu vực ven biển Cam Ranh, Khánh Hòa có hàm lượng cacbon hữu cơ (OM) tổng số ở mức nghèo đến trung bình, dao động từ 0,19 - 1,62%. Trong đó, một số mẫu đất CR3, CR4 và CR5 có hàm lượng OM cao hơn các mẫu còn lại. Đây cũng là những mẫu được lấy dưới thảm thực vật là cây cỏ và cây bụi phát triển nên có khả năng cung cấp nhiều xác hữu cơ cho đất. Riêng mẫu CR2 hàm lượng cacbon tổng số ở mức thấp 0,19%, nguyên nhân có thể do điểm thu mẫu CR2 nằm trên khu vực cồn cát, thành phần cát hạt cát lên tới 92,86%, không có thảm thực vật phát triển nên khả năng tích lũy cacbon trong đất cát không cao và tương ứng hàm lượng cacbon hữu cơ tổng số cũng ở mức nghèo.

So sánh với tiêu chuẩn các tiêu chuẩn quốc gia theo TCVN 7373:2004, TCVN 7474:2004, TCVN 7375:2005 và Cẩm nang ngành Lâm nghiệp (2006) cho thấy đất khu vực này là loại đất cát ven biển, thành phần các chất dinh dưỡng nằm trong giới hạn từ nghèo tới trung bình và cần được cải tạo để tăng cường chất lượng đất. Theo đó, các mẫu đất cát ven biển tại khu vực này có thể chia thành 2 nhóm chính: Nhóm có hàm lượng hữu cơ trung bình (OC 1,0 - 2,0%) gồm đất cát pha thịt ở khu vực CR3, CR4 và CR5. Nhóm có hàm lượng hữu cơ thấp (OC 0,19 - 0,85%) gồm đất cát ở khu vực CR2 và CR7.



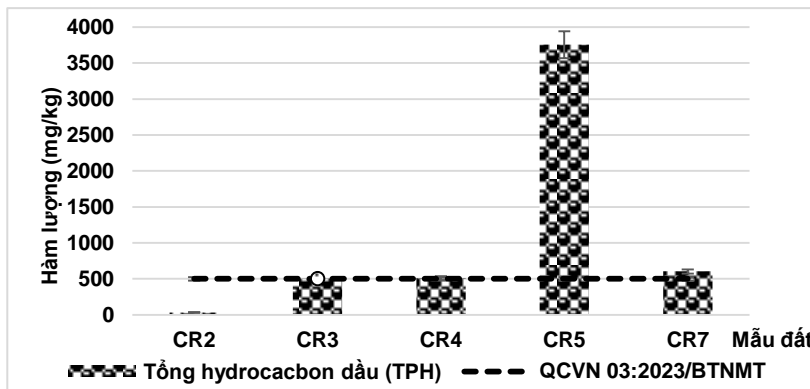
Hình 2. Đồ thị biểu diễn hàm lượng các chất tổng số trong 5 mẫu đất thu tại Cam Ranh, Khánh Hòa

Hàm lượng các hợp chất hydrocacbon có nguồn gốc dầu mỏ trong đất

Kết quả phân tích trên Bảng 4 và Hình 3 cho thấy, hàm lượng các hợp chất thơm đa vòng và chlorobenzene đều nằm trong ngưỡng cho phép. Thành phần PAHs có hàm lượng tương đối thấp, trung bình các mẫu đạt 0,052 mg/kg, dao động trong khoảng từ 0,016 - 0,076 mg/kg, thấp hơn so với giới hạn cho phép trong đất là 0,08 mg/kg. PAHs là hợp chất ưa béo, độ tan trong nước kém, nên nồng độ của PAHs trong môi trường thường thấp, có xu hướng kết hợp với các vật chất lơ lửng trong nước và lắng đọng xuống môi trường đất, trầm tích. Nguồn gốc phát sinh PAHs trong môi trường chủ yếu do xăng dầu (như tràn dầu, tháo lắp vật liệu...) và quá trình đốt cháy (như đốt cháy nhiên liệu, cháy rừng...). Phạm Thị Kha (2015) đã xác định hàm lượng 8 cấu tử PAHs trong trầm tích đầm Thị Nại dao động từ 0,003 mg/kg đến 0,113 mg/kg khô, thấp hơn giá trị giới hạn theo quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về chất lượng trầm tích (QCVN 43:2010/BTNMT). Đồng thời cũng xác định các PAHs đầm Thị Nại có nguồn gốc chủ yếu từ xăng dầu (Phạm Thị Kha, 2015).

Bảng 4. Hợp chất thơm đa vòng, chlorobenzen và tổng hydrocacbon dầu trong 5 mẫu đất thu tại Cam Ranh, Khánh Hòa

TT	Chỉ tiêu phân tích	Kết quả đánh giá ô nhiễm (mg/kg)					Trung bình (TB ± SD)	Giá trị giới hạn tối đa hàm lượng trong đất (mg/kg)
		CR2	CR3	CR4	CR5	CR7		
1	Hợp chất thơm đa vòng (PAHs)	0,016	0,076	0,065	0,048	0,053	0,052 ± 0,023	0,08 (QCVN 43:2012/BTNMT)
2	Chlorobenzen	0,052	0,092	0,087	0,098	0,084	0,083 ± 0,018	0,51 (QCVN 03:2023/BTNMT)
3	Tổng hydrocacbon dầu (TPH)	32,08	500,26	510,42	3.754,07	603,00	1079,965 ± 1511,358	500 (QCVN 03:2023/BTNMT)



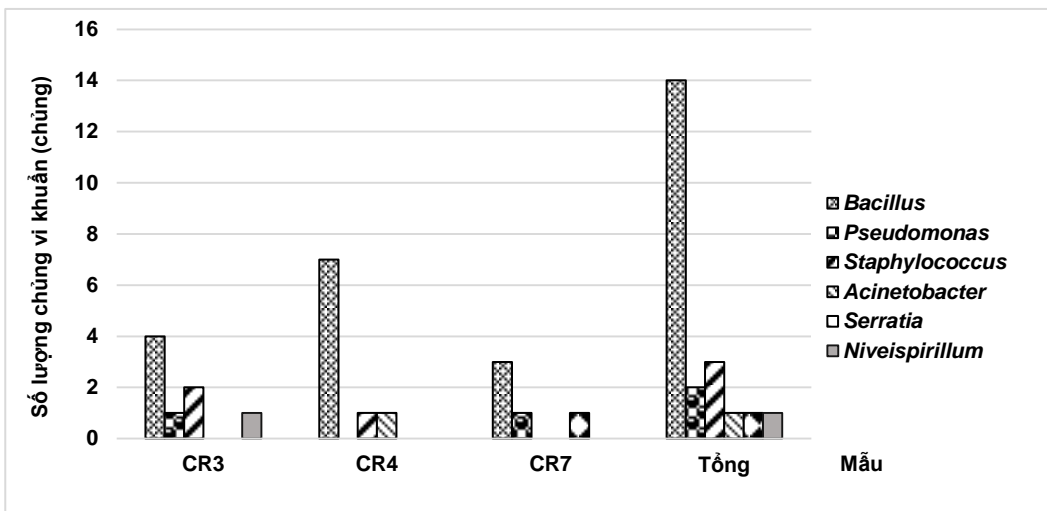
Hình 3. Đồ thị biểu diễn hàm lượng thành phần tổng hydrocacbon dầu (TPH) trong 5 mẫu đất thu tại Cam Ranh, Khánh Hòa

Đáng chú ý, thành phần dầu tổng số trong các mẫu đất thu thập có sự dao động lớn theo các vị trí phẫu diện khác nhau và theo sự phân tầng độ sâu của cùng một phẫu diện đất. Nếu tính giá trị trung bình theo khu vực, hàm lượng TPH trong các mẫu theo khu vực dao động trong khoảng 32,08 - 3854,07 mg/kg. Trong đó có 4 mẫu CR3, CR4, CR5, CR7 xác nhận có giá trị hàm lượng TPH > 500 mg/kg, vượt ngưỡng giá trị tối đa hàm lượng của thông số TPH trong đất theo Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về chất lượng đất thuộc nhóm loại 1 (theo QCVN 03:2023/BTNMT). Đặc biệt, mẫu đất thu tại khu vực CR5 cho thấy mức độ ô nhiễm dầu cao nhất, thể hiện ở hàm lượng dầu đạt 3854,07 mg/kg, cao gấp hơn gần 8 lần giá trị giới hạn 500 mg/kg theo Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về giới hạn cho phép của một số chất ô nhiễm trong đất (QCVN 03:2023/BTNMT). Như vậy, các vị trí khác nhau của khu vực Cam Ranh có thành phần cấu trúc đất, tính chất vật lý và hoá học cũng như mức độ ô nhiễm các thành phần hydrocarbon dầu mỏ khác nhau.

Nhìn chung, đất tại khu vực nghiên cứu có thành phần cơ giới nhẹ, hàm lượng cát hạt cao, trung bình 89,360%, trong khi hàm lượng sét thấp, trung bình 4,90%. Đất có phản ứng ít chua; đất không mặn đến mặn nhẹ. Thành phần các chất tổng số trong đất ở mức nghèo đến trung bình, một số khu vực bị ô nhiễm dầu cao, cần có phương hướng nghiên cứu ứng dụng xử lý cũng như chú trọng áp dụng các biện pháp cải tạo đất thích hợp.

Phân lập và xác định nhóm vi khuẩn phân hủy hydrocacbon dầu trong đất cát ven biển tại khu vực Vịnh Cam Ranh, Khánh Hòa

Các nghiên cứu về quần xã vi sinh vật ban đầu trong môi trường đất ô nhiễm dầu mang ý nghĩa quan trọng trong việc đánh giá mức độ ô nhiễm và tiềm năng ứng dụng xử lý bằng phân hủy sinh học. Theo nghiên cứu của Hamme và đồng tác giả (2003), vi khuẩn là nhóm đa dạng nhất trong quần xã vi sinh vật có khả năng phân hủy dầu (Van Hamme *et al.*, 2003). Khả năng phân hủy hydrocacbon dầu của các chủng vi khuẩn ở điều kiện nhiễm mặn là yếu tố quan trọng định hình sự phát triển của hệ sinh thái khu vực đất cát ven biển bị ô nhiễm dầu. Hình 4 biểu diễn kết quả phân lập và định danh 22 chủng vi khuẩn từ các mẫu đất CR3, CR4 và CR7 thu tại 3 khu vực có kết quả đánh giá ô nhiễm dầu trong đất với hàm lượng TPH trong khoảng (500 – 600 mg/kg). Kết quả phân lập và định danh các chủng vi khuẩn ở các khu vực CR2, CR5 được trình bày trong một công bố khác của nhóm nghiên cứu.



Hình 4. Đồ thị biểu diễn sự có mặt của các chi vi khuẩn trong các mẫu đất thu tại 3 khu vực CR3, CR4 và CR7

Để phân lập tuyển chọn các chủng vi khuẩn đơn có khả năng phân hủy hydrocacbon dầu mỏ trong điều kiện nhiễm mặn phù hợp cho ứng dụng xử lý dầu, các mẫu đất được nuôi cấy làm giàu theo phương pháp đã được mô tả. Sau các lần nuôi cấy làm giàu, màu sắc và độ đục của môi trường thay đổi rõ rệt so với mẫu ban đầu, không còn lớp dầu nổi trên bề mặt, trên thành bình có xuất hiện các vệt sinh khối tế bào. Từ 9 mẫu đất hỗn hợp thu tại 9 phẫu diện tương ứng thuộc 3 khu vực CR3, CR4 và CR7 đã phân lập tổng số 22 chủng vi khuẩn. Kết quả định danh dựa trên giải trình tự gen 16S rRNA thu được các chủng vi khuẩn thuộc về 5 chi vi khuẩn bao gồm: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Acinetobacter*, và *Niveispirillum*. Trong đó, *Bacillus* là chi vi khuẩn phổ biến nhất trong các mẫu đất nhiễm dầu, xuất hiện ở tất cả các mẫu và có tổng số lượng cao nhất (14 chủng). Hai chi *Pseudomonas* và *Staphylococcus* cũng xuất hiện trong các mẫu đất nhưng với số lượng ít hơn. Ba chi *Acinetobacter*, *Serratia* và *Niveispirillum* chỉ xuất hiện trong một mẫu đất duy nhất và với số lượng thấp (1 chủng). Đáng chú ý là các đại diện thuộc 4 chi vi khuẩn thu được trong nghiên cứu này đã được công bố khả năng phân hủy các thành phần hydrocacbon nguồn gốc dầu mỏ từ nhiều hệ sinh thái đa dạng bao gồm cả môi trường nước mặn và nước ngọt (Đỗ Thị Tuyền, 2023; Nguyễn Thị Kim Thanh, 2023; Van Hamme *et al.*, 2003). Điều này cho thấy sự đa dạng của các chi vi khuẩn trong các mẫu đất nhiễm dầu thu tại khu vực ven biển Cam Ranh, Khánh Hòa, với *Bacillus* là chi vi khuẩn chiếm ưu thế. Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu cho thấy vi khuẩn hình

thành bào tử rất quan trọng trong quá trình phân hủy dầu. Đây là chi vi khuẩn đã được báo cáo có khả năng thích nghi tốt trong các môi trường nghèo dinh dưỡng, có khả năng sử dụng đa dạng rất nhiều nguồn cacbon cơ chất khác nhau, trong đó có hydrocarbon dầu mỏ. Tuy nhiên, để định hướng ứng dụng các chủng vi khuẩn này trong xử lý ô nhiễm dầu trong đất nhiễm mặn cần triển khai các nghiên cứu trong phòng thí nghiệm và ở quy mô pilot để làm cơ sở đánh giá hiệu quả phân hủy dầu trong điều kiện thực tế.

KẾT LUẬN

Đặc điểm chung của đất khu vực đất ven biển Vịnh Cam Ranh là có thành phần cơ giới nhẹ, hàm lượng cát hạt cao (89,36%), hàm lượng sét thấp (4,90%). Đất có phản ứng ít chua; đất không mặn đến mặn nhẹ. Thành phần các chất tổng số trong đất ở mức nghèo đến trung bình nên cần chú trọng áp dụng các biện pháp cải tạo đất thích hợp. Các hợp chất thơm đa vòng và chlorobenzene trong ngưỡng cho phép. Tuy nhiên có 4/5 mẫu đất từ các khu vực tương ứng, CR3, CR4, CR5, CR7 có hàm lượng TPH > 500 mg/kg và được xác định là vượt ngưỡng chất ô nhiễm trong đất đối với nhóm đất loại 1 theo QCVN 03:2023/BTNMT. Từ các mẫu đất CR3, CR4 và CR7 thu tại 3 khu vực có hàm lượng TPH trong khoảng 500 – 600 mg/kg đã phân lập và định danh được 22 chủng vi khuẩn thuộc về 5 chi *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Acinetobacter*, và *Niveispirillum*. Trong đó *Bacillus* là chi vi khuẩn chiếm ưu thế và được xác định là có tiềm năng ứng dụng xử lý ô nhiễm dầu trong điều kiện thực tế.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được tài trợ bởi đề tài cấp Trung tâm nhiệt đới Việt - Nga, mã số: SH.Đ1.04/23.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bộ Tài nguyên và Môi trường (2015). Thông tư số 60/2015/TT-BTNMT Quy định về kỹ thuật điều tra, đánh giá đất đai.
- Corwin DL and Yemoto K (2020). Salinity: Electrical conductivity and total dissolved solids. *Soil Sci Soc Am J* 84(5): 1442-1461.
- Đỗ Thị Tuyền, Nguyễn Thị Kim Thanh, Nguyễn Thị Hiếu Thu, Nguyễn Thị Thanh Lợi, Ngô Cao Cường, Phí Quyết Tiến, (2023). Characterization of crude oil-degrading bacteria isolated from oil-contaminated saline soils in Cam Lam, Khanh Hoa. *Hội nghị Công nghệ sinh học toàn quốc 2023*: 774-779.
- Gupta SK, Chaudhari S and Sharma P (2019). Handbook of saline and alkali soils diagnosis reclamation and management.
- Ngô Trung Dũng, Nguyễn Thị Kim Oanh, Nguyễn Quốc Khánh, Trần Thị Nhân, Đặng Thị Ngọc, Phạm Viết Thành, Trần Linh Lan (2023). Đánh giá hiện trạng môi trường đất khu vực đất ngập nước xã Đồng Rui, huyện Tiên Yên, tỉnh Quảng Ninh. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ nhiệt đới* 31(6): 1-12.
- Nguyễn Ngọc Bảo Châu, Dương Minh Truyền, Trương Hoàng Đan và Lý Văn Lợi (2021). Đánh giá sự khác biệt về chỉ tiêu môi trường đất ở các sinh cảnh khác nhau tại vùng Cù Lao Dung. *Tạp chí Khoa học Đại học Đồng Tháp* 10(3): 56-63.
- Nguyễn Thị Kim Thanh, Đỗ Thị Tuyền, Nguyễn Thị Thanh Lợi, Ngô Cao Cường, Phí Quyết Tiến, (2023). Characterization of indigenous oil-degrading bacteria from oil-polluted soil in Cam Ranh, Khanh Hoa. *TNU Journal of Science and Technology* 228(10): 420 – 427.
- Phạm Thị Kha (2015). Hàm lượng Hydrocacbon đa vòng thơm (PAHs) trong trầm tích đầm Thị Nại (tỉnh Bình Định). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Biển* 15(3): 288-293.
- Quy chuẩn Việt Nam (2023). QCVN 03:2023/BTNMT: Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về chất lượng đất Tiêu chuẩn Quốc gia (2001). TCVN 6857 : 2001: Chất lượng đất - Phương pháp đơn giản để mô tả đất.
- Tiêu chuẩn Quốc gia (2004). TCVN 7373 : 2004: Chất lượng đất - Giá trị chỉ thị về hàm lượng nitơ tổng số trong đất Việt Nam
- Tiêu chuẩn Quốc gia (2004). TCVN 7374 : 2004: Chất lượng đất - Giá trị chỉ thị về hàm lượng photpho tổng số trong đất Việt Nam
- Tiêu chuẩn Quốc gia (2004). TCVN 7375:2004: Chất lượng đất - Giá trị chỉ thị về hàm lượng Kali tổng số trong đất Việt Nam
- Tiêu chuẩn Quốc gia (2012). TCVN 9236-2:2012: Chất lượng đất-Giá trị chỉ thị hàm lượng các chất vô cơ trong các nhóm đất chính Việt Nam.
- Van Hamme JD, Singh A and Ward OP (2003). Recent advances in petroleum microbiology. *Microbiol Mol Biol R* 67(4): 503-549.

ASSESSMENT OF SOIL ENVIRONMENTAL STATUS AND CHARACTERISTICS OF INDIGENOUS BACTERIAL GROUPS CAPABLE OF OIL DEGRADATION IN OIL-CONTAMINATED SOILS ON THE COAST OF CAM RANH BAY, KHANH HOA

Do Thi Tuyen^{1,4*}, Nguyen Kim Thuy¹, Tran Thị Thanh Thuy¹, Nguyen Thi Kim Thanh¹, Dinh Thi Thu Trang¹, Trinh Ngoc Hoang², Nguyen Thi Thanh Loi^{2,4}, Phi Quyet Tien^{2,4}, Ngo Cao Cuong^{1*}

¹Joint Vietnamese - Russia Tropical Science and Technology Research Center

²Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology

³Thai Nguyen University of Sciences

⁴Graduate University of Science and Technology - Vietnam Academy of Science and Technology, Hanoi

SUMMARY

The current state of oil pollution in coastal areas has necessitated urgent research and remediation efforts for environmental pollution. The study analyzed soil samples from Cam Ranh Bay, Khanh Hoa, to assess the current soil environmental status and the characteristics of indigenous bacteria capable of degrading oil under slightly saline conditions. The analysis of 5 soil samples from 5 corresponding areas (CR2, CR3, CR4, CR5, CR7) showed that the common characteristics of the surveyed soils include a light mechanical composition with a high sand content (89.36%), while the clay content is low (4.9%). The soils exhibited slightly acidic reactions and ranged from non-saline to slightly saline. Organic matter, nitrogen, phosphorus, and potassium content in the soil samples were found to be from poor to moderate levels; polycyclic aromatic hydrocarbons and chlorobenzene were within permissible limits. However, the Total Petroleum Hydrocarbons (TPH) index varied significantly from 32.08 to 3854.07 mg/kg, with four areas identified as oil-polluted, particularly sample CR5, which had pollution levels nearly eight times the permissible limit (QCVN 03:2023/BTNMT). From the soil samples collected in 3 areas (CR3, CR4, and CR7) identified as oil-contaminated with TPH levels ranging from 500 to 600 mg/kg, enrichment culture and isolation identified 22 bacterial strains belonging to 5 genera: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Acinetobacter*, and *Niveispirillum*. These results indicate the diversity of bacteria in oil-contaminated soil samples from the coastal area of Cam Ranh, Khanh Hoa, opening up the potential use of these bacterial strains for future oil pollution remediation efforts.

Keywords: Oil degradation, soil analysis, indigenous bacteria, oil-degrading bacteria, Cam Ranh Bay.

* Author for correspondence: Tel: 0982010336; Email: ngoacaocuong2011@gmail.com; tuyendodhkh@gmail.com